

氏 名	Lukic Violeta
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	医 学
学位授与番号	博甲第 4255 号
学位授与の日付	平成 22 年 12 月 31 日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科生体制御科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)
学位論文題目	Free Radical Scavenger Edaravone Administration Protects against Tissue Plasminogen Activator Induced Oxidative Stress and Blood Brain Barrier Damage (組織プラスミノゲンアクチベータによる酸化ストレスと 血液脳関門の障害に対するフリーラジカルスカベンジャー エダラボンの保護作用)
論文審査委員	教授 伊達 勲 教授 筒井公子 准教授 浅沼幹人

### 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

One of the therapeutics for acute cerebral ischemia is tissue plasminogen activator (t-PA). Using t-PA after 3h time window increases the chances of haemorrhage, involving multiple mechanisms. For most ischemic stroke patients edaravone is used as a neuroprotectant in Japan.

For in vivo study, normal Wistar rats intracerebrally received vehicle, plasmin or t-PA, followed by intravenous edaravone or vehicle. At 6h after the administration rat brains were perfused hematoxylin and eosin staining, and immunostainings for oxidative stress markers (4-HNE, HEL, 8-OHdG, AGE) and neurovascular unit markers (NAGO, occludin, collagen IV, MMP-9, GFAP) were performed. In in vitro study, after an administration of vehicle, plasmin, t-PA or edaravone from upper or lower insert, Na-F (natrium-fluorescein) assay, NAGO, occludin, claudin 5 and GFAP immunostainings were performed.

Plasmin and t-PA damaged rat brain with most prominent injury in the t-PA group on 4-HNE, HEL, and 8-OHdG immunostainings. Such brain damages were strongly decreased in t-PA plus edaravone group. For the neurovascular unit immunostainings, a total area of occludin and collagen IV stainings were decreased in single plasmin or t-PA group, which greatly recovered in t-PA plus edaravone group. In contrast, MMP staining was the strongest in t-PA group, less in plasmin, and was the least prominent in t-PA plus edaravone group. In vitro data showed a strong damage to tight junctions for occludin and claudin 5 in both administration groups, while there were no changes for endothelial (NAGO) and perivascular (GFAP) stainings. Such damage to tight junctions was also recovered in t-PA plus edaravone group with similar recovery in Na-F permeability assay.

Administration of t-PA caused oxidative stress damage to lipids, proteins and DNA, and led to disruption of outer parts of neurovascular unit, greater than the effect in plasmin administration. Additive edaravone ameliorated such an oxidative damage by t-PA with protecting outer layers of BBB (in vivo) and tight junctions (in vitro).

### 論 文 審 査 結 果 の 要 旨

t-PA は急性期脳梗塞に対する治療法として普及しているが、それ自体の脳に対する影響については、十分解明されていない。本研究では、t-PA を正常脳に直接投与し、どのような影響があるかについて酸化ストレスマーカーと neurovascular unit マーカーを用いて検討した。t-PA が酸化ストレスマーカーと neurovascular unit マーカーの両方を誘導することが判明し、これらに対してフリースカベンジャーであるエダラボンを投与すると神経保護効果が認められた。本研究は t-PA の副作用に対してエダラボンの治療効果があることを示しており、脳梗塞の臨床に大いに寄与する研究であり、価値ある業績であると認める。

よって、本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。